

## 耐莖潰瘍病紅龍果品系篩選與耐病相關 植物防禦因子之探討

洪 筱 雁<sup>1)</sup> 謝 慶 昌<sup>2)</sup> 林 慧 玲<sup>3)</sup>

關鍵字：紅龍果、莖潰瘍病、耐病品系、植物防禦因子、抗氧化系統

**摘要：**紅龍果莖潰瘍病 (pitaya stem canker)是近幾年來紅龍果的重要病害，嚴重影響紅龍果的生長發育及產量。本試驗探討紅龍果不同品系之耐病能力與耐病能力相關之植物防禦因子。將紅龍果'無刺'、'大紅'和'宜蘭紅肉' 3 個品系當季成熟之肉質莖剪取 20 cm 進行莖潰瘍病原菌 (*Neoscytalidium dimidiatum*)接種於植體，探討不同品系之紅龍果對於病原菌之抗病性，'無刺'具有較佳之紅龍果莖潰瘍病耐病力，其次為'大紅'，而以'宜蘭紅肉'抗病力最差。進一步測定與植物抗病力相關之因子，結果顯示總酚類化合物 (Total Phenolic Compound; TPC)、可溶性蛋白質 (Soluble Protein; SP)、總游離氨基酸 (Total free amino acid; FAA)、抗壞血酸 (Ascorbic acid; ASA)、過氧化物酶 (Peroxidase; POD)、抗氧化能力 (Antioxidant capacity; FRAP) 在耐病品系'無刺'具有較高濃度或較高活性，且相較於不耐病之'大紅'及'宜蘭紅肉'品系具有顯著差異，顯示上述成分及酵素活性與耐病力具良好相關性。

### 前 言

紅龍果 (*Hylocereus* spp.)為仙人掌科 (Cactaceae)三角柱屬 (*Hylocereus*)植物，原產於中南美洲一帶，因栽培容易、病蟲害少、適應性極廣，因而被認為相當具有潛力的新興果樹之一 (顏，1985)。紅龍果多採粗放栽培，對於病蟲害防治甚少，但近年來病害對紅龍果的危害逐漸嚴重，如炭疽病、果腐病、莖腐病、病毒病等，重挫紅龍果的產值 (蔡，2004；

- 
- 1) 國立中興大學園藝學系碩士班研究生。
  - 2) 國立中興大學園藝學系副教授。
  - 3) 國立中興大學園藝學系教授，通訊作者。

蔡, 2013; Volencia-Botín *et al.*, 2003)。2012 年 6 月農委會農業試驗所嘉義分所發表由 *Neoscytalidium dimidiatum* 引起之病害, 並定名為紅龍果莖潰瘍病 (pitaya stem canker), 為紅龍果之新興病害, 目前推薦防治藥劑極少, 栽培管理不當之果園甚至會因此病害遭受廢園之命運, 只能從健康種苗、抗病品系選育、清園、適當的栽培管理配合化學藥劑防治等方法, 來達到防止紅龍果莖潰瘍病傳播與感染 (倪等, 2013; 2015; 蔡, 2013; Chuang *et al.*, 2012)。

李 (2015) 篩選出耐紅龍果莖潰瘍病之品系'無刺', 本試驗以此品系進行接種試驗, 確定其耐病程度, 進一步以耐病程度不同之紅龍果品系測定與植物抗病力相關之因子, 包括抗氧化能力、抗氧化物質濃度、抗氧化物酶活性與元素濃度, 了解紅龍果莖潰瘍病與其抗病力相關因子之關係。

## 材料與方法

### 一、試驗材料及取樣方法

本試驗以位於台中霧峰區之國立中興大學園藝試驗場葡萄中心內所栽培之紅龍果品系'無刺'、'大紅'、'宜蘭紅肉'為試驗材料。植株種植於直徑一尺塑膠盆中, 定期給予適當田間管理。耐病品系試驗於 2015 年 12 月 15 日接種, 每品系取 20 公分之當季肉質莖, 為 3 重複進行耐病性評估。耐病能力相關植物防禦因子調查試驗於 2016 年 11 月 4 日進行。每品系取 2 根 20 公分之當季肉質莖。

### 二、紅龍果莖潰瘍病原菌接種

紅龍果莖潰瘍病菌株, 取自行政院農委會臺中區農業改良場。取 0.5 cm<sup>2</sup> 之紅龍果莖潰瘍病菌絲塊放置於含有馬鈴薯葡萄糖瓊脂培養基 (Potato Dextrose Agar, PDA) 之 9 公分塑膠培養皿放置於室溫培養 7 天後, 添加 15 mL 的無菌水, 再以消毒過後的 L 型玻璃棒輕刮並靜置 30 分鐘, 之後倒入 50 mL 燒杯中以血球計數器於電子顯微鏡計算孢子濃度。

接種耐病評估試驗使用的菌液孢子濃度為  $2.23 \times 10^6$  spore·mL<sup>-1</sup>。耐病能力相關植物防禦因子調查試驗使用的菌液孢子濃度為  $1.275 \times 10^6$  spore·mL<sup>-1</sup>。試驗以消毒過的鐵釘於肉質莖上製造深 0.18 公分、寬 0.07 公分之傷口, 接著在傷口上以分注器注射菌液 5 $\mu$ l, 每個肉質莖處理 30 個點, 15 個點為病菌處理組、15 個點為無菌水對照組, 每點距離大約 1 公分, 將所有肉質莖放置於 25°C 之 60 L 呼吸缸中培養 28 天, 並以打氣加濕的方式保持 100% 空氣相對溼度。

### 三、調查項目及分析方法

#### (一) 每週調查發病率

接種傷口出現明顯紅色小病斑即視為發病, 每週計算調查肉質莖接種點發病數。

發病率 = 已發病接種數/總接種數 $\times$ 100%, 單位以百分比表示。

(二) 每週調查病斑直徑大小 (Diameter of canker spots)

病斑直徑大小在接種 7 天後每週測量。以游標卡尺 (Digimatic caliper, Model CD-6", Mityoty Corporation)測量病斑最大直徑，再減去傷口大小。單位以公分 (cm)表示。

(三) 總酚類化合物 (Total phenolic compound, TPC)濃度

參考 Keith 等 (1958)之方法。取肉質莖的部分並切碎混合均勻，稱取 2 公克肉質莖組織加入 5 mL 之 0.1 M 磷酸緩衝溶液 (pH 7.0)及適量海砂於冰浴中研磨，隨後以 4°C 20000 xg 離心 20 分鐘，以 Miracloth (Merck)過濾，取上清液備用。

參考周 (2016)之方法，分析時取 0.1 mL 萃取液稀釋至 1 mL，加入 0.1 mL Folin-Ciocalteus phenol reagent (Merck)、0.2 mL 之 20% Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> 及 8.7 mL 去離子水震盪均勻後，利用沸水煮 3 分鐘後取出冷卻，隨後以 Elisa Reader (BMG LABTECH, FLUOstar Omega Ω, Germany)測定 660 nm 波長下之吸光值，標準曲線以 100 ppm caffeic acid 配置。TPC 濃度以 μg/g FW 表示。

(四) 可溶性蛋白質 (Soluble protein, SP)濃度

參考 Lowry 等 (1951)方法。取肉質莖的部分並切碎混合均勻，稱取 2-公克肉質莖組織加入 5 mL 之 0.1 M 磷酸緩衝溶液 (pH 7.0)及適量海砂於冰浴中研磨，隨後以 4°C 20000 xg 離心 20 分鐘，以 Miracloth (Merck)過濾，取上清液備用。

參考周 (2016)之方法，分析時取 0.1mL 萃取液稀釋至 2 mL，加入 5 mL 之 Reagent A [ 2 公克 Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>, 1mL K<sub>2</sub>C<sub>4</sub>H<sub>4</sub>O<sub>6</sub> (2% potassium tartrate) , 1 mL CuSO<sub>4</sub> (1% CuSO<sub>4</sub>·5H<sub>2</sub>O) , 10 mL 1N NaOH , 90 mL H<sub>2</sub>O ] 後震盪均勻，靜置 10 分鐘後加入 5 mL 之 Reagent B [ Folin-Ciocalteus phenol reagent (Merck):H<sub>2</sub>O = 1:1 ] 後震盪均勻，靜置 30 分鐘，隨後以 Elisa Reader (BMG LABTECH, FLUOstar Omega Ω, Germany)測定 660 nm 波長下之吸光值，標準曲線以 0.25 mg · mL<sup>-1</sup>BSA 配置 SP 濃度以 mg/g FW 表示。

(五) 過氧化物酶 (Peroxidase, POD)活性

參考 Johnson 及 Cunningham (1972)之方法。取肉質莖的部分並切碎混合均勻，稱取 2 公克肉質莖組織加入 5 mL 之 0.1 M 磷酸緩衝溶液(pH 7.0)及適量海砂於冰浴中研磨，隨後以 4°C 20000xg 離心 20 分鐘，以 Miracloth (Merck)過濾，取上清液備用。

分析時取 0.1 mL 酶萃取液加入 2 mL 含 3.6×10<sup>-3</sup>M Guaiacol 之緩衝溶液 (100mL 0.1 M 磷酸緩衝溶液 pH6.0 加入 0.04 mL guaiacol)及 0.4 mL 去離子水，最後加入 0.2 mL 0.0135 M H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 開始反應。以分光光度計 (Shimadzu UV-200S)及記錄器 (Recorder)紀錄 470 nm 波長一段時間內之吸光值變化，空白組以 0.1 mL 之萃取緩衝溶液代替酶萃取液進行相關測定。POD 活性以 ΔA/g FW/min 表示，POD 比活性以 unit/mg protein 表示。

(六) 總游離胺基酸 (Total free amino acid, FAA)濃度

參考 Rosen (1957)之方法。取肉質莖的部分並切碎混合均勻，稱取 2 公克肉質莖組織加入 5 mL 之 0.1 M 磷酸緩衝溶液 (pH 7.0)及適量海砂於冰浴中研磨，隨後以 4°C 20000xg 離心 20 分鐘，以 Miracloth (Merck)過濾，取上清液備用。

分析時取 0.2 mL 萃取液稀釋至 1 mL，加上 1 mL 之 ninhydrin reagent (5 g ninhydrin, 95 g  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ , 43 g  $\text{Na}_2\text{HPO}_3$ , 3 g fructose, 溶於 1 L 去離子水保存於低溫黑暗環境)均勻震盪後，利用沸水煮 10 分鐘後取出冷卻，再加入 5 mL 之 color diluents (2g  $\text{KIO}_3$  溶解於 600 mL 去離子水，再以 95%酒精稀釋至 1 L)，隨後以 Elisa Reader (BMG LABTECH, FLUOstar Omega  $\Omega$ , Germany)測定 570 nm 波長下之吸光值，標準曲線以 1 mM  $\alpha$ -alanina 配置。FAA 濃度以 m mole alanine/g FW 表示。

#### (七) 抗壞血酸 (Ascorbic acid, ASA)濃度

取肉質莖的部分並切碎混合均勻，秤取 2 公克肉質莖組織加入 5 mL 偏磷酸抽取液 (含 6%之 metaphosphoric acid 的 2N acetic acid)，研磨後以抗壞血酸試條 (Reflectoquact ascorbic acid test strip, 24-450 mg/L, Merck)沾取待測溶液，置於 RQ-flex 讀取抗壞血酸濃度。抗壞血酸濃度以 mg/g FW 表示。

#### (八) 抗氧化能力 (Antioxidant capacity, FRAP)

參考 Benzie 及 Strain (1996)之方法，測量紅龍果肉質莖 FRAP (Ferric reducing ability of plasma)抗氧化能力。取肉質莖的部分並切碎混合均勻，秤取 2 公克肉質莖組織加入 5 mL 醋酸緩衝溶液 (pH 3.6)及適量海砂於冰浴中研磨，隨後以 4°C 20000xg 離心 20 分鐘，以 Miracloth (Merck)過濾，取上清液備用。

參考周 (2016)之方法，分析時取 50  $\mu\text{L}$  萃取液加入 700  $\mu\text{L}$  working reagent (30mM 醋酸緩衝溶液 (pH 3.6)、10 mM TPTZ (2,4,6-tripyridyl-s-triazine)及 20 mM  $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$  以 10:1:1 比例配置)均勻震盪後，將試管置於 37°C 水浴 10 分鐘，隨後以 Elisa Reader (BMG LABTECH, FLUOstar Omega  $\Omega$ , Germany)測定 593 nm 波長下之吸光值，標準曲線以 1000  $\mu\text{M}$   $\text{FeSO}_4$  配置。抗氧化能力以  $\mu\text{mol/g}$  FW 表示。

## 結 果

### 一、發病率及病斑大小

'無刺'、'大紅'、'宜蘭紅肉'三品系之當季肉質莖進行莖潰瘍病接種，接種 7 天後已出現病徵，在病原菌接種處理，'無刺'、'大紅'及'宜蘭紅肉'發病率分別為 0%、2.2%及 0%(表 1)；病斑直徑分別為 0 cm、0.004 cm、0 cm (表 2)。在接種 14 天後，'無刺'、'大紅'及'宜蘭紅肉'發病率為 0%、31.1%及 86.7%(表 1)；病斑直徑分別為 0 cm、0.107 cm 及 0.358 cm (表 2)。接種 21 天後，'無刺'、'大紅'及'宜蘭紅肉'發病率為 0%、35.6%及 100%(表 1)；病斑直徑分別為 0 cm、0.252 cm 及 0.845 cm (表 2)。接種 28 天後，'無刺'、'大紅'及'宜蘭紅肉'發病率為 0%、40.0%及 100%(表 1)；病斑直徑分別為 0 cm、0.267 cm 及 0.867 cm (表 2)。最終以'宜蘭紅肉'具有最高發病率及最大病斑直徑，而'無刺'則具有最低發病率及最小病斑直徑，整體上而言三品系耐病程度為'無刺'最佳，'大紅'次之，'宜蘭紅肉'最易感病。

表 1. 不同品系紅龍果肉質莖接種莖潰瘍病後不同時期的發病率比較 (接種孢子懸浮液濃度  $2.23 \times 10^6$  spore·mL<sup>-1</sup>)

Table 1. Disease incidence on in-season mature stems of pitayas after inoculated with *Neoscytalidium dimidiatum* (spore concentration  $2.23 \times 10^6$  spore·mL<sup>-1</sup>).

Treatment <sup>z</sup>	Disease incidence (%)			
	7 day	14 day	21 day	28 day
無刺 inf	0.0a <sup>y</sup>	0.0c	0.0c	0.0c
無刺 ck	0.0a	0.0c	0.0c	0.0c
大紅 inf	2.2a	31.1b	35.6b	40.0b
大紅 ck	0.0a	0.0c	0.0c	0.0c
宜蘭紅肉 inf	0.0a	86.7a	100.0a	100.0a
宜蘭紅肉 ck	0.0a	0.0c	0.0c	0.0c

<sup>z</sup>inf: stem inoculation *N. dimidiatum*; ck: stem inoculation water.

<sup>y</sup>Mean separation within columns was by LSD at  $p \leq 0.05$ .

<sup>v</sup>Root gall index based on a scale from 0 to 4; 0 = no infestation, 1 = 1-25% of galled root in whole root, 2 = 26-50%, 3 = 51-75%, 4 = 76-100%.

<sup>x</sup>Number of knots from 10 cm randomly harvested roots.

<sup>w</sup>Means within a column followed by the same letter are not significantly different by Fisher's LSD test at 5% level.

表 2. 不同品系紅龍果肉質莖接種莖潰瘍病後不同時期病斑直徑的比較 (接種孢子懸浮液濃度  $2.23 \times 10^6$  spore·mL<sup>-1</sup>)。

Table 2. Lesion diameters on in-season mature stems of pitayas after inoculated with *Neoscytalidium dimidiatum* (spore concentration  $2.23 \times 10^6$  spore·mL<sup>-1</sup>).

Treatment <sup>z</sup>	Lesion diameter (cm)			
	7 day	14 day	21 day	28 day
無刺 inf	0.000a <sup>y</sup>	0.000c	0.000c	0.000c
無刺 ck	0.000a	0.000c	0.000c	0.000c
大紅 inf	0.004a	0.107b	0.252b	0.278b
大紅 ck	0.000a	0.000c	0.000c	0.000c
宜蘭紅肉 inf	0.000a	0.358a	0.845a	0.867a
宜蘭紅肉 ck	0.000a	0.000c	0.000c	0.000c

<sup>z</sup>inf: stem inoculation *N. dimidiatum*; ck: stem inoculation water.

<sup>y</sup>Mean separation within columns was by LSD at  $p \leq 0.05$ .

## 二、可溶性蛋白質濃度與總游離胺基酸濃度

'無刺'、'大紅'及'宜蘭紅肉'三品系對於莖潰瘍病之耐病程度以'無刺'最耐，'大紅'次之，'宜蘭紅肉'最差。可溶性蛋白質濃度之變化與'無刺'、'大紅'及'宜蘭紅肉'耐莖潰瘍病程度有相似趨勢，濃度以'無刺'為最高，次之為'大紅'及'宜蘭紅肉'(圖 1)。數據顯示未感染之'無刺'為  $8.26 \text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}\text{FW}$  及'無刺'感染組  $7.19 \text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}\text{FW}$  最高，次之為'宜蘭紅肉'未感染組  $5.04 \text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}\text{FW}$ 、'大紅'未感染組  $4.76 \text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}\text{FW}$ 、'大紅'感染組  $4.36 \text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}\text{FW}$  及'宜蘭紅肉'感染組  $4.01 \text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}\text{FW}$  (圖 1)。

總游離胺基酸濃度與'無刺'、'大紅'及'宜蘭紅肉'耐莖潰瘍病程度有相似趨勢，濃度以'無刺'為最高，次之為'大紅'及'宜蘭紅肉'(圖 2)。結果為'無刺'感染組  $13.34\times 10^{-3} \text{ m mole alanine}\cdot\text{g}^{-1}\text{FW}$  及'無刺'未感染組  $12.83\times 10^{-3} \text{ m mole alanine}\cdot\text{g}^{-1}\text{FW}$  最高，次之為'大紅'感染組  $8.91\times 10^{-3} \text{ m mole alanine}\cdot\text{g}^{-1}\text{FW}$ 、'大紅'未感染組  $8.64\times 10^{-3} \text{ m mole alanine}\cdot\text{g}^{-1}\text{FW}$ 、'宜蘭紅肉'感染組  $6.75\times 10^{-3} \text{ m mole alanine}\cdot\text{g}^{-1}\text{FW}$  及'宜蘭紅肉'未感染組  $6.41\times 10^{-3} \text{ m mole alanine}\cdot\text{g}^{-1}\text{FW}$  (圖 2)。

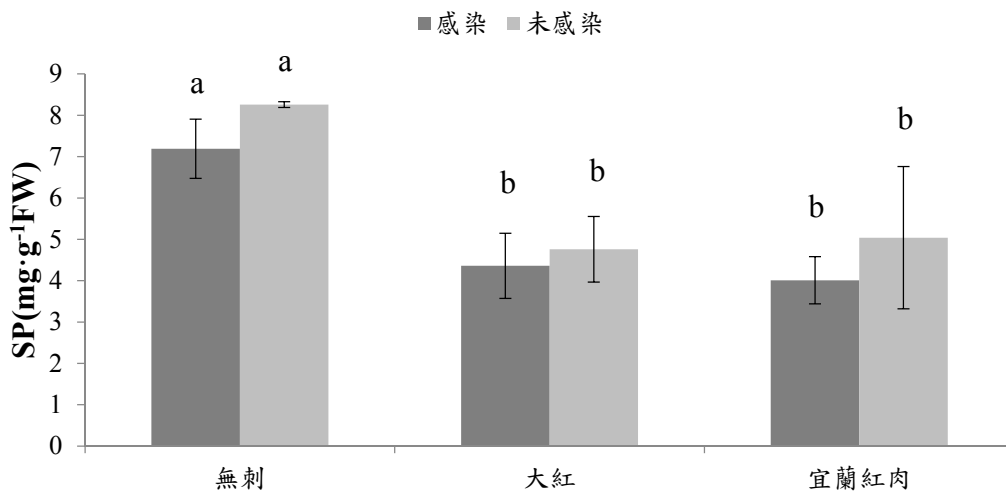


圖 1. 未感染與感染莖潰瘍 3 天後'無刺'、'大紅'、'宜蘭紅肉'肉質莖可溶性蛋白質濃度。

Fig. 1. Soluble protein concentrations in in-season mature stems of 'Wu Ci', 'Ta Hong' and 'Yi Lan Hong Rou' pitaya after *Neoscytalidium dimidiatum* inoculation and without inoculation 3 days. Means followed by the same letter are not significantly different by LSD at  $p\leq 0.05$ .

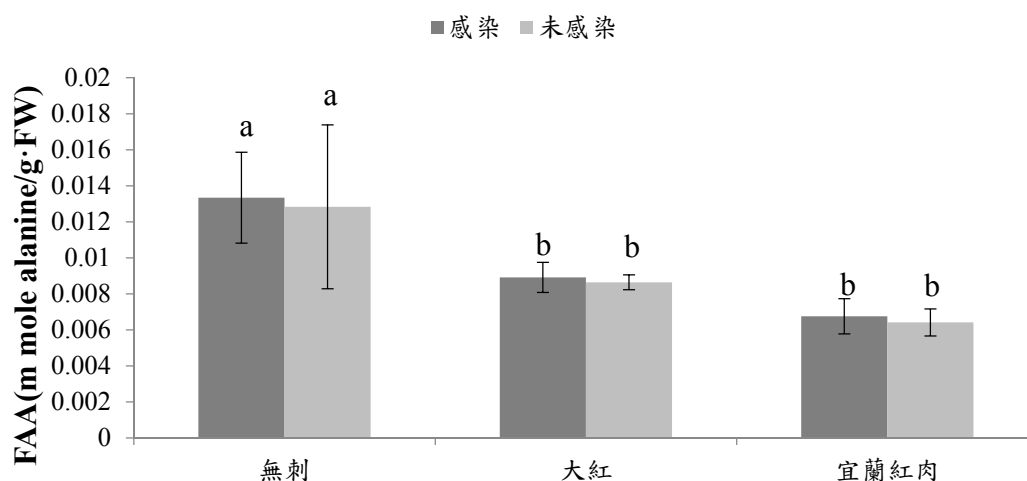


圖 2. 未感染與感染莖潰瘍 3 天後'無刺'、'大紅'、'宜蘭紅肉'肉質莖總游離胺基酸濃度。

Fig. 2. Total free amino acid concentrations in in-season mature stems of 'Wu Ci', 'Ta Hong' and 'Yi Lan Hong Rou' pitaya after *Neoscytalidium dimidiatum* inoculation and without inoculation 3 days. Means followed by the same letter are not significantly different by LSD at  $p \leq 0.05$ .

### 三、抗氧化能力、總酚類化合物濃度與抗壞血酸濃度

抗氧化能力以 FRAP 測定。'無刺'、'大紅'及'宜蘭紅肉'三品系對於莖潰瘍病之耐病程度為'無刺'最佳，'大紅'次之，'宜蘭紅肉'最差。抗氧化能力與'無刺'、'大紅'及'宜蘭紅肉'耐莖潰瘍病程度有趨勢相似，以'無刺'為最高，次之為'宜蘭紅肉'及'大紅'，在同品系之感染組與未感染組間並無顯著差異（圖 3）。結果以'無刺'未感染組  $9.56 \mu\text{mol}\cdot\text{g}^{-1}\text{FW}$  及'無刺'感染組  $9.09 \mu\text{mol}\cdot\text{g}^{-1}\text{FW}$  最高，其次為'宜蘭紅肉'感染組  $6.26 \mu\text{mol}\cdot\text{g}^{-1}\text{FW}$ 、'宜蘭紅肉'未感染組  $5.17 \mu\text{mol}\cdot\text{g}^{-1}\text{FW}$  及'大紅'感染組  $4.71 \mu\text{mol}\cdot\text{g}^{-1}\text{FW}$ ，'大紅'感染組  $4.63 \mu\text{mol}\cdot\text{g}^{-1}\text{FW}$  為最低（圖 3）。

總酚類化合物為抗氧化物。肉質莖總酚類化合物濃度與'無刺'、'大紅'及'宜蘭紅肉'耐莖潰瘍病程度呈正相關，以'無刺'為最高，次之為'大紅'及'宜蘭紅肉'，但感染及未感染組間總酚類化合物濃度並無顯著差異（圖 4）。數據顯示'無刺'感染組  $826.58 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}\text{FW}$  及'無刺'未感染組  $743.25 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}\text{FW}$  最高，其次為'大紅'感染組  $503.34 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}\text{FW}$ 、'宜蘭紅肉'感染組  $492.00 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}\text{FW}$ 、'宜蘭紅肉'未感染組  $464.71 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}\text{FW}$  及'大紅'未感染組  $439.99 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}\text{FW}$ （圖 4）。

抗壞血酸同為抗氧化物之一。紅龍果肉質莖抗壞血酸濃度與總酚類化合物濃度有變化趨勢相似，'無刺'、'大紅'及'宜蘭紅肉'耐莖潰瘍病程度呈正相關，但在感染組與未感染組間統計上無顯著差異（圖 5）。'無刺'未感染組抗壞血酸之濃度顯著高於'大紅'與'宜蘭紅肉'，數據顯示'無刺'未感染組  $43.75 \text{mg}/100\text{g}\cdot\text{FW}$  及'無刺'感染組  $35.18 \text{mg}/100\text{g}\cdot\text{FW}$  最高，其餘品系間及感染、未感染間均無顯著差異（圖 5）。

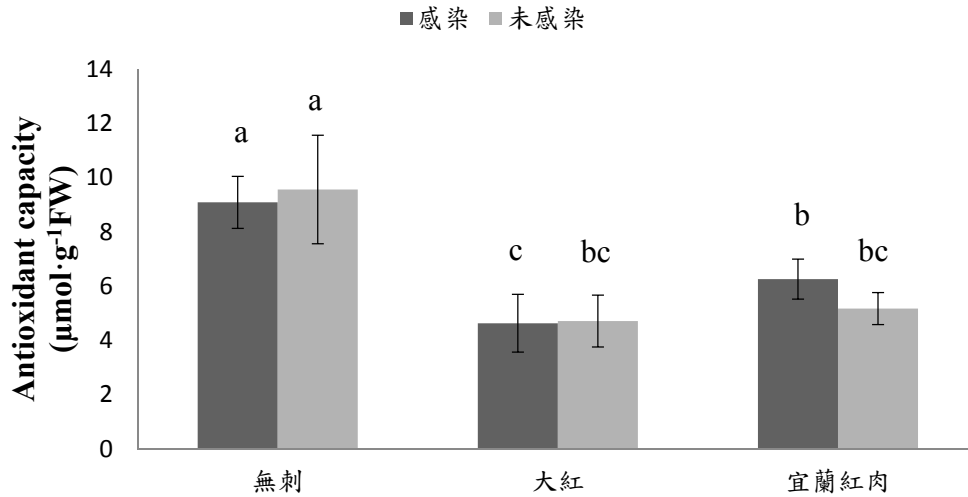


圖 3. 未感染與感染莖潰瘍 3 天後'無刺'、'大紅'、'宜蘭紅肉'肉質莖抗氧化能力(FRAP)。  
Fig. 3. Antioxidant capacity in in-season mature stems of 'Wu Ci', 'Ta Hong' and 'Yi Lan Hong Rou' pitaya after *Neoscytalidium dimidiatum* inoculation and without inoculation 3 days. Means followed by the same letter are not significantly different by LSD at  $p \leq 0.05$ .

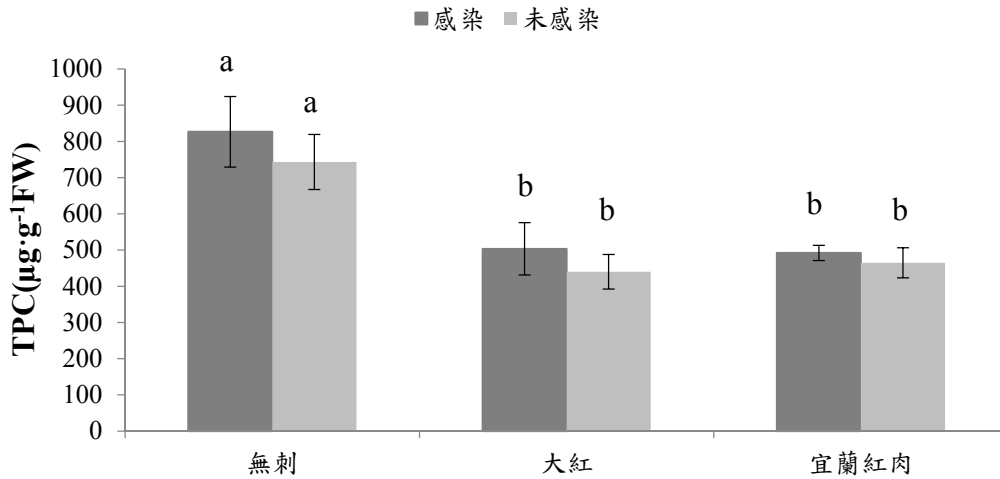


圖 4. 未感染與感染莖潰瘍 3 天後'無刺'、'大紅'、'宜蘭紅肉'肉質莖總酚類化合物濃度。  
Fig. 4. Total phenolic compound concentrations in in-season mature stems of 'Wu Ci', 'Ta Hong' and 'Yi Lan Hong Rou' pitaya after *Neoscytalidium dimidiatum* inoculation and without inoculation 3 days. Means followed by the same letter are not significantly different by LSD at  $p \leq 0.05$ .



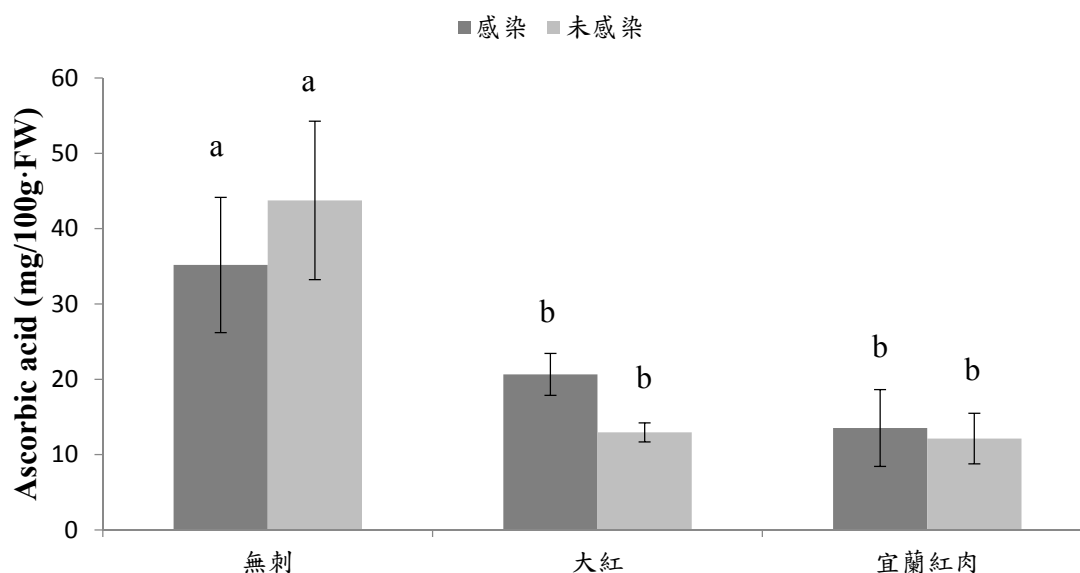


圖 5. 未感染與感染莖潰瘍 3 天後'無刺'、'大紅'、'宜蘭紅肉'肉質莖抗壞血酸濃度。

Fig. 5. Ascorbic acid concentrations in in-season mature stems of 'Wu Ci', 'Ta Hong' and 'Yi Lan Hong Rou' pitaya after *Neoscytalidium dimidiatum* inoculation and without inoculation 3 days. Means followed by the same letter are not significantly different by LSD at  $p \leq 0.05$ .

#### 四、過氧化物酶活性變化

'無刺'、'大紅'及'宜蘭紅肉'三品系對於莖潰瘍病之耐病程度以'無刺'最佳，'大紅'次之，'宜蘭紅肉'最差。過氧化物酶為抗氧化酶之一。過氧化物酶活性及比活性與'無刺'、'大紅'及'宜蘭紅肉'耐莖潰瘍病程度呈正相關，尤其在未感染組品系間過氧化物酶活性及比活性皆以'無刺'最高、'大紅'其次、'宜蘭紅肉'最低，在感染組也有類似的趨勢 (圖 6、圖 7)。過氧化物酶活性及比活性非常相似，過氧化物酶活性為'無刺'未感染組  $1.50 \Delta A/g \cdot FW \cdot min$  活性最高，次之為'無刺'感染組  $0.50 \Delta A/g \cdot FW \cdot min$ 、'大紅'感染組  $0.37 \Delta A/g \cdot FW \cdot min$ 、'大紅'未感染組  $0.25 \Delta A/g \cdot FW \cdot min$ 、'宜蘭紅肉'感染組  $0.04 \Delta A/g \cdot FW \cdot min$ ，'宜蘭紅肉'未感染組  $0 \Delta A/g \cdot FW \cdot min$  活性最低，過氧化物酶比活性為'無刺'未感染組  $0.18 \text{ unit} \cdot \text{mg}^{-1} \text{ protein}$  最高，其次為'大紅'感染組  $0.09 \text{ unit} \cdot \text{mg}^{-1} \text{ protein}$ 、'無刺'感染組  $0.07 \text{ unit} \cdot \text{mg}^{-1} \text{ protein}$ 、'大紅'未感染組  $0.05 \text{ unit} \cdot \text{mg}^{-1} \text{ protein}$ ，最低為'宜蘭紅肉'感染組  $0.01 \text{ unit} \cdot \text{mg}^{-1} \text{ protein}$  及'宜蘭紅肉'未感染組  $0 \text{ unit} \cdot \text{mg}^{-1} \text{ protein}$  (圖 6、圖 7)。

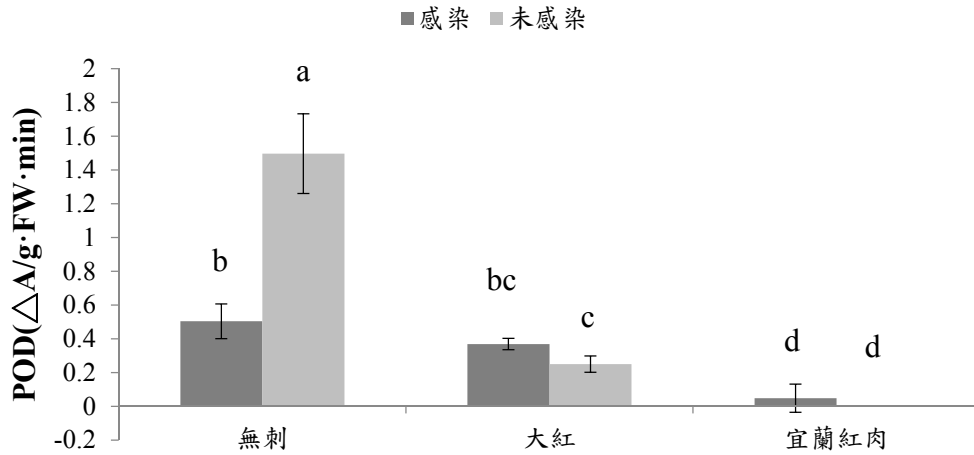


圖 6. 未感染與感染莖潰瘍 3 天後'無刺'、'大紅'、'宜蘭紅肉'肉質莖之過氧化物酶活性。  
Fig. 6. Peroxidase activity in in-season mature stems of 'Wu Ci', 'Ta Hong' and 'Yi Lan Hong Rou' pitaya after *Neoscytalidium dimidiatum* inoculation and without inoculation 3 days. Means followed by the same letter are not significantly different by LSD at  $p \leq 0.05$ .

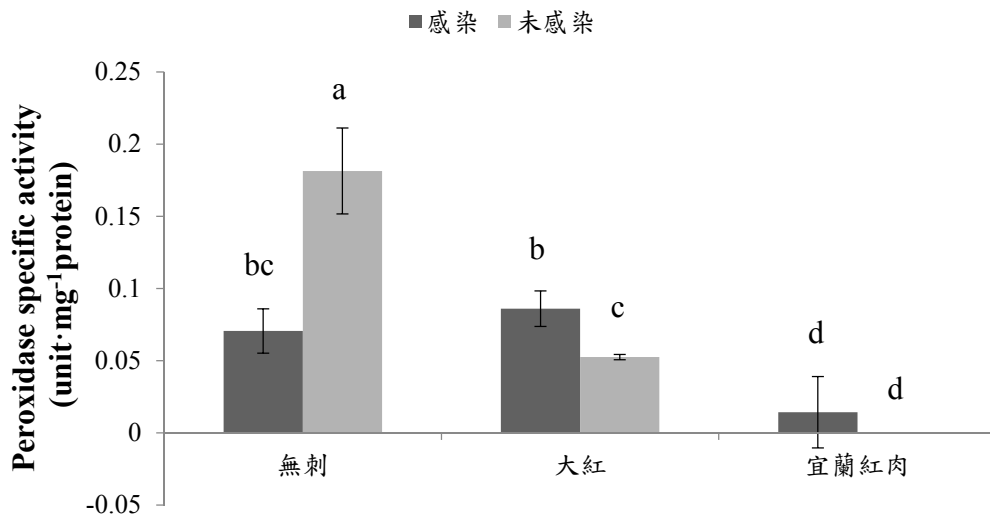


圖 7. 未感染與感染莖潰瘍 3 天後'無刺'、'大紅'、'宜蘭紅肉'肉質莖之過氧化物酶比活性。  
Fig. 7. Peroxidase specific activity in in-season mature stems of 'Wu Ci', 'Ta Hong' and 'Yi Lan Hong Rou' pitaya after *Neoscytalidium dimidiatum* inoculation and without inoculation 3 days. Means followed by the same letter are not significantly different by LSD at  $p \leq 0.05$ .

## 討 論

### 一、發病率及病斑大小

倪等 (2013)以針刺接種法，將紅龍果莖潰瘍病原菌接種於田間紅龍果肉質莖上，接種 14 天後即可發現病徵。葉 (2012)同樣以針刺接種法將紅龍果莖潰瘍病原菌接種於栽培於溫室中紅龍果肉質莖上，一樣在接種 14 天後可發現病徵。本試驗中在接種 7 天後即可觀察到病徵之出現，與上述倪等 (2013)及葉 (2012)結果有所差異，可能與試驗環境不同有關，25-35°C 為莖潰瘍病原菌發病之最適溫 (倪等，2013、2015；葉，2012；Mohd *et al.*, 2013)，且發病最適合之相對濕度為 95%以上 (倪等，2013、2015；葉，2012)，在本試驗中給予了最適發病溫度 25°C 及相對濕度 100%。

本試驗紅龍果品系'無刺'、'大紅'及'宜蘭紅肉'對莖潰瘍病發病率與李 (2015)試驗結果有相似趨勢，李 (2015)試驗中接種 28 天後'無刺'、'大紅'及'宜蘭紅肉'發病率分別為 3.85%、11.54%及 100%；病斑直徑分別約為 0.043、0.170 及 1.507 公分，本試驗中接種 28 天後'無刺'、'大紅'及'宜蘭紅肉'發病率分別為 0%、40%、100% (表 1)；病斑直徑分別為 0、0.267、0.867 公分 (表 2)，發病率及病斑直徑皆為'宜蘭紅肉'最高、'大紅'次之、'無刺'最低。於試驗結果可以推測，'無刺'為較耐病品系，次之為'大紅'，而'宜蘭紅肉'為最不耐病之品系。

'無刺'具有耐紅龍果莖潰瘍病與肉質莖上刺極短之特性，較不易造成田間栽培上之困擾，但果實品質及特性尚有待進一步調查，2017 年採收果實平均重量約 400 克左右、果實硬度約 13.72N、糖度約 18°Brix、酸度約 0.28%，是具有成為栽培種之潛力。

### 二、可溶性蛋白質濃度與總游離胺基酸濃度

可溶性蛋白質為能夠以小分子狀態溶於水或其他溶劑的蛋白質，常在植物生理、微生物、食品加工等試驗中作為重要指標。胺基酸是組成蛋白質之基本物質，同時為主要滲透調節物質。Hung 和 Kao (1993)於菸草淹水逆境試驗中葉片蛋白質濃度下降，Ashraf 和 Mehmood (1990)淹水逆境試驗中最不耐淹水 *B. napus* L.會抑制可溶性蛋白質及總游離胺基酸濃度增加，但耐淹水 *B. juncea* L.可溶性蛋白質濃度增加，同樣為耐淹水之 *B. carinata* 總游離胺基酸濃度顯著增加。

'無刺'、'大紅'及'宜蘭紅肉'三品系對於莖潰瘍病之耐病程度為'無刺'最佳，'大紅'次之，'宜蘭紅肉'最差。在未感染組紅龍果肉質莖可溶性蛋白質濃度及總游離胺基酸濃度與'無刺'、'大紅'及'宜蘭紅肉'耐莖潰瘍病程度有相似趨勢 (圖 1、圖 2)。在感染組部分則是可溶性蛋白質濃度較未感染組低，而總游離胺基酸濃度較未感染組高，雖然兩者在統計上並無顯著差異 (圖 1、圖 2)。紅龍果肉質莖可溶性蛋白質及總游離胺基酸濃度似乎沒有隨著病害發生而有所增加，但是在耐病品系'無刺'顯著具有較高可溶性蛋白質及總游離胺基酸濃度，推測兩者濃度與耐病力有關。

### 三、抗氧化能力、總酚類化合物濃度與抗壞血酸濃度

抗氧化物包含酚類化合物 (phenols)、抗壞血酸 (ascorbic acid, ASA)等，可不經由酶參

與反應，直接與體內活性氧族反應，再經由其他抗氧化物還原，以達到降低活性氧族對植物體傷害之目的 (Wahid *et al.*, 2007; Jaleel *et al.*, 2009)。Zeng 等人 (2010)對甲殼素處理臍橙果實接種病害後，抗壞血酸濃度隨著時間下降，有抑制病害效果時，處理組抗壞血酸濃度下降程度較未處理感染組緩慢。

'無刺'、'大紅'及'宜蘭紅肉'三品系對於莖潰瘍病之耐病程度為'無刺'最佳，'大紅'次之，'宜蘭紅肉'最差。紅龍果肉質莖總酚類化合物濃度及抗壞血酸濃度與'無刺'、'大紅'及'宜蘭紅肉'耐莖潰瘍病程度有相似趨勢，以'無刺'兩者濃度為最高，在'大紅'及'宜蘭紅肉'濃度則無顯著差異 (圖 4、圖 5)。感染組總酚類化合物濃度及抗壞血酸濃度與未感染組有相似之趨勢，感染組總酚類化合物濃度有較未感染組高之現象，但是統計上並無差異，在抗壞血酸濃度方面並無出現類似現象 (圖 4、圖 5)。

抗氧化能力以 FRAP 進行測定。未感染組抗氧化能力相同的與'無刺'、'大紅'及'宜蘭紅肉'耐莖潰瘍病程度有相似趨勢，一樣以'無刺'最高，次之為'大紅'及'宜蘭紅肉'，在感染組與未感染組間並無顯著差異，但是有相似之趨勢 (圖 3)。

抗氧化能力與抗氧化物濃度在耐病品系'無刺'皆為最高，同時在紅龍果肉質莖感染後 2 者也無顯著改變，由試驗結果可以推測兩者與耐病力有關。

#### 四、過氧化物酶活性變化

抗氧化酶如過氧化物酶，能夠將植物體內之活性氧族轉會為較無害之物質，達到降低活性氧族對植物體的傷害 (Apel and Hirt, 2004; Mittler *et al.*, 2002; Jaleel *et al.*, 2009; Wahid *et al.*, 2007; Scandalios, 2005)。Zeng 等人 (2010)對甲殼素處理臍橙果實及 Shao 等人 (2013)茶樹精油處理草莓果實接種病害後，具有抑制病害之效果，在 2 個試驗中具有抑制效果處理組之過氧化物酶有較未處理感染組高之趨勢，有較未處理感染組高之趨勢。

'無刺'、'大紅'及'宜蘭紅肉'三品系對於莖潰瘍病之耐病程度為'無刺'最佳，'大紅'次之，'宜蘭紅肉'最差。在未感染組過氧化物酶活性及比活性與'無刺'、'大紅'及'宜蘭紅肉'耐莖潰瘍病程度有相似趨勢，在感染組也有相似之趨勢但較不明顯，耐病品系'無刺'之氧化物酶活性及比活性明顯的在感染組較未感染組有下降趨勢，但是'大紅'及'宜蘭紅肉'兩品系在感染組與未感染組之氧化物酶活性及比活性則是無明顯差異，有感染組活性稍高於未感染組之現象(圖 6、圖 7)。

試驗中過氧化物酶活性變化與 Zeng 等人 (2010) 及 Shao 等人 (2013)前人研究相似，未感染組活性較感染組高，且活性及其比活性與莖潰瘍病耐病程度具有正相關趨勢，且耐病力最佳之'無刺'未感染組活性及其比活性為最高，推測過氧化物酶活性與莖潰瘍病耐病力有關。

## 參 考 文 獻

- 李家輝。2015。紅龍果肉質莖礦物營養調查、花芽誘導與抗莖潰瘍病品系篩選。國立中興大學園藝學系碩士論文。113pp。
- 周佳頤。2016。肉桂醛處理對‘臺農二號’番木瓜果皮轉色、抗氧化物含量及抗氧化酶活性之影響。國立中興大學園藝學系碩士論文。53pp。
- 倪蕙芳、黃巧雯、許淑麗、賴素玉、楊宏仁。2013。紅龍果莖潰瘍病之病原特性及防治藥劑篩選。台灣農業研究。62(3): 225-234。
- 倪蕙芳、黃巧雯、林筑蘋、林靜宜、安寶貞、楊宏仁、蔡志濃。2015。紅龍果莖潰瘍病病原特性及防治研究。台灣紅龍果生產技術改進研討會專刊。pp.81-91。
- 葉洵瑜。2012。臺灣紅龍果莖部潰瘍病之研究。國立台灣大學植物病理與微生物學研究所碩士論文。84pp。
- 蔡志濃。2013。紅龍果的重要病害及其防治。農業試驗所技術服務。95: 1-7。
- 蔡怡芳。2004。紅龍果莖腐病病因之探討。國立屏東科技大學植物保護系碩士論文 121pp。
- 顏昌瑞。1985。紅龍果—台灣農家要覽(農作篇二)。財團法人豐年社。台北。pp. 173-176。
- Apel, K. and H. Hirt. 2004. Reactive oxygen species: Metabolism, oxidative stress, and signal Transduction. *Annu. Rev. Plant Biol.* 55: 373-399.
- Ashraf, M. and S. Mehmood. 1990. Effects of waterlogging on growth and some physiological parameters of four Brassica species. *Plant Soil.* 121(2): 203-209.
- Benzie, I. F. and J. J. Strain. 1996. The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of “Antioxidant Power”: The FRAP assay. *Anal. Biochem.* 239(1): 70-76.
- Chuang, M. F., H. F. Ni, H. R. Yang, S. L. Shu, S. Y. Lai, and Y. L. Jiang. 2012. First report of stem canker disease of pitaya (*Hylocereus undatus*, *H. polyrhizus*) caused by *Neoscytalidium dimidiatum* in Taiwan. *Plant Dis.* 96(6): 906.
- Hurng, W. P. and C. H. Kao. 1993. Loss of starch and increase of  $\alpha$ -amylase activity in leaves of flooded tobacco plants. *Plant Cell Physiol.* 34(4): 531-534.
- Jaleel, C. A., K. Riadh, R. Gopi, P. Manivannan, J. Ines, H. J. Al-Juburi, Z. Chang-Xing, S. Hong-Bo, and R. Panneerselvam. 2009. Antioxidant defense responses: physiological plasticity in higher plants under abiotic constraints. *Acta. Physiol. Plant.* 31(3): 427-436.
- Johnson, L. B. and B. A. Cunningham. 1972. Peroxidase activity in healthy and leaf-rust-infected leaves. *Phytochemistry.* 11(2): 547-551.
- Keith, R. W., D. L. Tourneau, and D. Mahlum. 1958. Quantitative paperchromatographic determination of phenols. *J. Chromatogr.* 1: 534-536.
- Lowry, D. H., N. J. Rosebrough, A. L. Farr, and R. J. Randal. 1951. Protein measurement with the folin phenol reagent. *J. Biol. Chem.* 193(1): 265-275.

- Mittler, R. 2002. Oxidative stress, antioxidants and stress tolerance. *Trends Plant Sci.* 7(9): 405-410.
- Mohd, M. S., B. Salleh, and L. Zakaria. 2013. Identification and molecular characterizations of *Neoscytalidium dimidiatum* causing stem canker of red-fleshed dragon fruit (*Hylocereus polyrhizus*) in Malaysia. *J. Phytopathol.* 161(11-12): 841-849.
- Rosen, H. 1957. A modified ninhydrin colorimetric analysis for amino acids. *Arch. Biophys.* 67(1): 10-15.
- Scandalios, J. G. 2005. Oxidative stress: molecular perception and transduction of signals triggering antioxidant gene defenses. *Braz. J. Med. Boil. Res.* 38(7): 995-1014.
- Shao, X., H. Wang, F. Xu, and S. Cheng. 2013. Effects and possible mechanisms of tea tree oil vapor treatment on the main disease in postharvest strawberry fruit. *Postharvest Biol. Technol.* 77: 94-101.
- Volencia-Botín, A. J., J. S. Sandoval-Islas, E. Cárdenas-Soriano, T. J. Michailides, and G. Rendón-Sánchez. 2003. *Botryosphaeria dothidea* causing stem spots on *Hylocereus undatus* in Mexico. *Plant Pathol.* 52(6): 803-803.
- Wahid, A., S. Gelani, M. Ashraf, and M. R. Foolad. 2007. Heat tolerance in plants: An overview. *Environ. Exp. Bot.* 61: 199-223.
- Zeng, K., Y. Deng, J. Ming, and L. Deng. 2010. Induction of disease resistance and ROS metabolism in navel oranges by chitosan. *Sci. Hortic.* 126(2): 223-228.

## Selection of Pitaya (*Hylocereus* spp.) Genotypes Tolerant and Defense Responses to Pitaya Stem Canker (*Neoscytalidium dimidiatum*)

Hsiao-Yen Hong <sup>1)</sup> Ching-Chang Shiesh <sup>2)</sup> Huey-Ling Lin <sup>3)</sup>

Key words: Pitaya, Pitaya stem canker, Resistant line, Plant defense factor, Antioxidant system

### Summary

Pitaya stem canker is a serious disease in recent years that affects growth and yield of pitaya. In this study, different lines of pitaya were investigated for their tolerance to stem canker. On season mature stems of pitaya 'Wu Ci', 'Ta Hong' and 'Yi Lan Hong Rou' with a length of 20 cm were inoculated with *Neoscytalidium dimidiatum* to evaluate their resistance to pitaya stem canker. Our results showed that pitaya 'Wu Ci' has the best pitaya stem canker disease resistance, followed by 'Ta Hong', and 'Yi Lan Hong Rou' has the worst resistance. Furthermore, results from analysis of plant defense associated factors indicated that total phenolic compound (TPC), soluble protein (SP), total free amino acid (FAA), ascorbic acid (ASA) concentrations, peroxidase (POD) activity and antioxidant capacity (FRAP) significantly higher in 'Wu Ci', compared with 'Ta Hong' and 'Yi Lan Hong Rou'. Taken together, our results suggested that the concentrations or activity of above-mentioned components are correlated to plant defense responses.

---

1) Graduate student, Department of Horticulture, National Chung Hsing University.s

2) Associate professor, Department of Horticulture, National Chung Hsing University.

3) Professor, Department of Horticulture, National Chung Hsing University. Corresponding author.

